

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-292353

(P2000-292353A)

(43) 公開日 平成12年10月20日 (2000.10.20)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テームト* (参考)

G 0 1 N 21/64

G 0 1 N 21/64

F 2 G 0 4 3

H 0 4 N 1/04

H 0 4 N 1/04

E 5 C 0 7 2

審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号

特願平11-99783

(22) 出願日

平成11年4月7日 (1999.4.7)

(71) 出願人 000005201

富士写真フイルム株式会社

神奈川県南足柄市中沼210番地

(72) 発明者 清水 仁

神奈川県足柄上郡開成町宮台798番地 富

士写真フイルム株式会社内

(74) 代理人 100059959

弁理士 中村 稔 (外6名)

Fターム(参考) 2G043 AA03 BA16 CA03 DA02 EA01

EA14 FA06 GA02 GA06 GB01

GB21 HA01 JA03 KA05 LA03

MA01 NA01 NA06 NA13

5C072 AA01 BA11 DA02 DA09 DA16

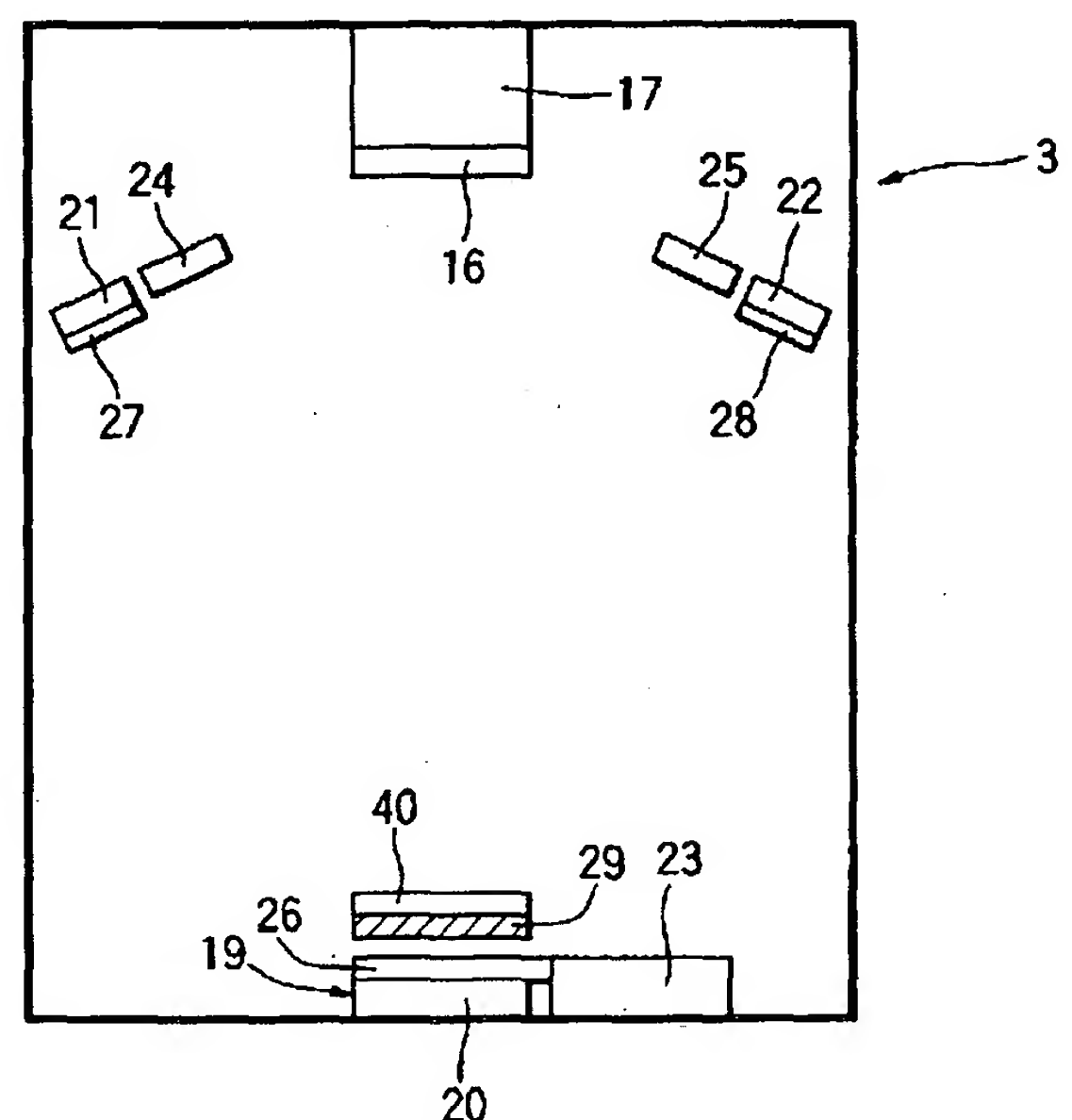
EA05 EA08 XA10

(54) 【発明の名称】 蛍光画像生成装置

(57) 【要約】

【課題】 散乱された励起光によって画像中に生ずるノイズを効果的に除去して、高感度で、蛍光画像を生成することのできる蛍光画像生成装置を提供すること。

【解決手段】 画像担体40に含まれた蛍光物質を励起する波長の励起光を発する少なくとも一つの励起光源20、21、22と、蛍光物質を励起しない波長の光を発する少なくとも一つの光源23、24、25と、CCDカメラ2と、CCDカメラの前面に配置され、励起光をカットする励起光カットフィルタ16と、少なくとも一つの励起光源によって、画像担体に含まれた蛍光物質を励起し、蛍光物質から発せられた蛍光を検出して得られた画像データから、少なくとも一つの光源によって、画像担体を照射し、散乱した光を検出して得られた補正画像データをデジタル的に減算して、蛍光画像データを生成する画像処理手段33を備えたことを特徴とする。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 画像担体に含まれた蛍光物質を励起する波長の励起光を発する少なくとも一つの励起光源と、前記蛍光物質を励起しない波長の光を発する少なくとも一つの光源と、CCDカメラと、前記CCDカメラの前面に配置され、前記励起光をカットする励起光カットフィルタと、前記少なくとも一つの励起光源によって、前記画像担体に含まれた前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から発せられた蛍光を検出して得られた画像データから、前記少なくとも一つの光源によって、前記画像担体

を照射し、散乱した光を検出して得られた補正画像データをデジタル的に減算して、蛍光画像データを生成する画像処理手段を備えたことを特徴とする蛍光画像生成装置。

【請求項2】 画像担体に含まれた蛍光物質を励起する波長の励起光を発する少なくとも一つの励起光源と、CCDカメラと、前記CCDカメラの前面に配置され、前記画像担体に含まれた前記蛍光物質を励起した結果、前記蛍光物質から発せられる蛍光をカットする蛍光カットフィルタが着脱自在に取付けられるとともに、前記励起光をカットする励起光カットフィルタが取付けられ、前記蛍光カットフィルタと前記励起光カットフィルタが前記CCDカメラの前面に選択的に位置するように、移動可能なフィルタ部材と、前記少なくとも一つの励起光源によって、前記画像担体に含まれた前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から発せられた蛍光を、前記励起光カットフィルタを介して、検出して得られた画像データから、前記少なくとも一つの励起光源によって、前記画像担体に含まれた前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から発せられた蛍光を、前記蛍光カットフィルタを介して、検出して得られた画像データをデジタル的に減算して、蛍光画像データを生成する画像処理手段を備えたことを特徴とする蛍光画像生成装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、蛍光画像生成装置に関するものであり、さらに詳細には、散乱された励起光によるノイズを効果的に除去して、高感度で、蛍光画像を生成することのできる蛍光画像生成装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 放射線が照射されると、放射線のエネルギーを吸収して、蓄積し、その後に、特定の波長域の電磁波を用いて励起すると、照射された放射線のエネルギーの量に応じた光量の輝尽光を発する特性を有する輝尽性蛍光体を、放射線の検出材料として用いて、放射性標識を付与した物質を、生物体に投与した後、その生物体あるいはその生物体の組織の一部を試料とし、この試料を、輝尽性蛍光体層が形成された蓄積性蛍光体シートと一定時間重ね合わせるにより、放射線エネルギーを

輝尽性蛍光体層に含まれる輝尽性蛍光体に蓄積し、しかる後に、電磁波によって、輝尽性蛍光体層を走査して、輝尽性蛍光体を励起し、輝尽性蛍光体から放出された輝尽光を光電的に検出して、デジタル画像信号を生成し、画像処理を施して、CRTなどの表示手段上あるいは写真フィルムなどの記録材料上に、画像を生成するように構成されたオートラジオグラフィシステムが知られている（たとえば、特公平1-60784号公報、特公平1-60782号公報、特公平4-3952号公報など。）。

【0003】 他方、オートラジオグラフィシステムにおける放射性標識物質に代えて、蛍光物質を標識物質として使用した蛍光検出システムが知られている。このシステムによれば、蛍光画像を読み取ることにより、遺伝子配列、遺伝子の発現レベル、蛋白質の分離、同定、あるいは、分子量、特性の評価をおこなうことができ、たとえば、電気泳動させるべき複数のDNA断片を含む溶液中に、蛍光色素を加えた後に、複数のDNA断片をゲル支持体上で電気泳動させ、あるいは、蛍光色素を含有させたゲル支持体上で、複数のDNA断片を電気泳動させ、あるいは、複数のDNA断片をゲル支持体上で電気泳動させた後に、ゲル支持体を蛍光色素を含んだ溶液に浸すなどして、電気泳動させたDNA断片を標識し、励起光によって、蛍光色素を励起して、生じた蛍光を検出することにより、画像を生成し、ゲル支持体上のDNA断片の分布を検出したり、あるいは、複数のDNA断片をゲル支持体上で電気泳動させた後に、DNAを変性し、次いで、サザン・ブロッティング法により、ニトロセルロースなどの転写支持体上に、変性DNA断片の少なくとも一部を転写し、目的とするDNAと相補的なDNAもしくはRNAを蛍光色素で標識して調製したプローブと変性DNA断片とをハイブリダイズさせ、プローブDNAもしくはプローブRNAと相補的なDNA断片のみを選択的に標識し、励起光により、蛍光色素を励起して、生じた蛍光を検出することにより、画像を生成し、転写支持体上の目的とするDNA断片の分布を検出したりすることができる。さらに、標識物質により標識した目的とする遺伝子を含むDNAと相補的なDNAプローブを調製して、転写支持体上のDNAとハイブリダイズさせ、酵素を標識物質により標識された相補的なDNAと結合させた後、蛍光基質と接触させて、蛍光基質を蛍光を発する蛍光物質に変化させ、励起光によって、生成された蛍光物質を励起して、生じた蛍光を検出することによって、画像を生成し、転写支持体上の目的とするDNA断片の分布を検出したりすることができる。この蛍光検出システムによれば、放射性物質を使用することなく、簡易に、遺伝子配列などを検出することができるという利点がある。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 励起光によって、蛍光

物質を励起して、蛍光画像を読み取る場合、蛍光のみが検出されるように、カメラレンズの前に、波長分離フィルタを設けて、励起光をカットすることが一般に行われているが、波長分離フィルタによって、完全に、励起光をカットすることが困難なため、試料によって、散乱された励起光が、蛍光物質から発せられた蛍光とともに、検出され、画像中にノイズを発生させ、高感度に、蛍光画像を読み取ることができないという問題があった。ことに、ゲル支持体は、励起光を散乱しやすく、散乱光によるノイズを除去することが大きな課題となっていた。したがって、本発明は、散乱された励起光によって画像中に生ずるノイズを効果的に除去して、高感度で、蛍光画像を生成することのできる蛍光画像生成装置を提供することを目的とするものである。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明のかかる目的は、本件第一発明によれば、画像担体に含まれた蛍光物質を励起する波長の励起光を発する少なくとも一つの励起光源と、前記蛍光物質を励起しない波長の光を発する少なくとも一つの光源と、CCDカメラと、前記CCDカメラの前面に配置され、前記励起光をカットする励起光カットフィルタと、前記少なくとも一つの励起光源によって、前記画像担体に含まれた前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から発せられた蛍光を検出して得られた画像データから、前記少なくとも一つの光源によって、前記画像担体を照射し、散乱した光を検出して得られた補正画像データをデジタル的に減算して、蛍光画像データを生成する画像処理手段を備えた蛍光画像生成装置によって達成される。本件第一発明によれば、画像担体に含まれた蛍光物質が励起されない波長の光を発する少なくとも一つの光源を用いて、CCDカメラに、散乱された光のみを検出させて、補正画像データを生成し、画像処理手段によって、散乱された励起光に起因するノイズを含む画像データから、補正画像データをデジタル的に減算して、蛍光画像データを生成することが可能になるから、散乱された励起光に起因するノイズを、蛍光画像から効果的に除去し、高感度で、蛍光画像を生成することが可能となる。

【0006】本発明の前記目的はまた、本件第二発明によれば、画像担体に含まれた蛍光物質を励起する波長の励起光を発する少なくとも一つの励起光源と、CCDカメラと、前記CCDカメラの前面に配置され、前記画像担体に含まれた前記蛍光物質を励起した結果、前記蛍光物質から発せられる蛍光をカットする蛍光カットフィルタが着脱自在に取付けられるとともに、前記励起光をカットする励起光カットフィルタが取付けられ、前記蛍光カットフィルタと前記励起光カットフィルタが前記CCDカメラの前面に選択的に位置するように、移動可能なフィルタ部材と、前記少なくとも一つの励起光源によって、前記画像担体に含まれた前記蛍光物質を励起し、前

記蛍光物質から発せられた蛍光を、前記励起光カットフィルタを介して、検出して得られた画像データから、前記少なくとも一つの励起光源によって、前記画像担体に含まれた前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から発せられた蛍光を、前記蛍光カットフィルタを介して、検出して得られた画像データをデジタル的に減算して、蛍光画像データを生成する画像処理手段を備えた蛍光画像生成装置によって達成される。本件第二発明によれば、蛍光カットフィルタを用いて、画像担体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光をカットし、CCDカメラに、散乱された励起光のみを検出させて、補正画像データを生成し、画像処理手段によって、散乱された励起光に起因するノイズを含む画像データから、補正画像データをデジタル的に減算して、蛍光画像データを生成し、得られた蛍光画像データに基づいて、蛍光画像を生成しているから、散乱された励起光に起因するノイズを、蛍光画像から効果的に除去し、高感度で、蛍光画像を生成することが可能となる。また、蛍光カットフィルタは、フィルタ部材に着脱自在に設けられているため、使用する蛍光物質に応じて、所望の蛍光カットフィルタをフィルタ部材に取付けることによって、効果的に、散乱された励起光に起因するノイズを、蛍光画像から効果的に除去することができる。

【0007】

【発明の実施の形態】図1は、本発明の実施態様にかかる蛍光画像生成装置の略正面図である。図1に示されるように、画像生成装置1は、冷却CCDカメラ2および暗箱3とパーソナルコンピュータ4を備えており、パーソナルコンピュータ4は、CRT5とキーボード6とを備えている。図2は、冷却CCDカメラ2の略縦断面図である。図2に示されるように、冷却CCDカメラ2は、CCD7と、アルミニウムなどの金属で作られた伝熱板8と、CCD7を冷却するためのペルチェ素子9と、CCD7の前面に配置されたシャッタ10と、CCD7により生成されたアナログ画像データをデジタル画像データに変換するA/D変換器11と、A/D変換器11により、デジタル化された画像データを一時的に記憶する画像データバッファ12と、冷却CCDカメラ2の動作を制御するカメラ制御回路13を備えている。暗箱3との間に形成された開口部は、ガラス板14により閉じられたおり、冷却CCDカメラ2の周囲には、ペルチェ素子9が発する熱を放熱するための放熱フィン15が、長手方向のほぼ1/2にわたって形成されている。ガラス板14の前面には、カメラレンズ17が取付けられ、カメラレンズ17が前面の暗箱3内に色分離フィルタ16が配置されている。図3は、暗箱3の略縦断面図である。図3に示されるように、暗箱3内には、発光波長中心が450nmの励起光を発する第一の青色LED励起光源20と、第一の青色LED励起光源20の斜め上方には、それぞれ、発光波長中心が450

nmの励起光を発する第二の青色LED励起光源21および第三の青色LED励起光源22が設けられている。第一の青色LED励起光源20は直方体状の平板19に形成され、平板19には、第一の青色LED励起光源20に隣接して、第一の赤色LED光源23が形成されている。さらに、第二の青色LED励起光源21および第三の青色LED励起光源22に隣接して、それぞれ、第二の赤色LED光源24、第三の赤色LED光源25が設けられており、第一の青色LED励起光源20の上
10 面、第二の青色LED励起光源21および第三の青色LED励起光源22の前面には、それぞれ、フィルタ26、27、28が貼着されている。各フィルタ26、27、28は、450nm近傍の波長以外の蛍光物質の励起に有害な光をカットして、450nm近傍の波長の光のみを透過する性質を有している。フィルタ26の上方には、蛍光物質の画像を担持しているゲル支持体あるいは転写支持体よりなる画像担体40を載置する拡散板29が支持されている。第一の青色LED励起光源20および第一の赤色LED光源23が形成された平板19は、その長手方向に、モータ（図示せず）によって、移動可能で、第一の青色LED励起光源20と第一の赤色LED光源23が選択的に拡散板29の下方に位置するように構成されている。図4は、第一の青色LED励起光源20と第一の赤色LED光源23が形成された平板19の略斜視図である。図4に示されるように、第一の青色LED励起光源20と第一の赤色LED光源23は、平板19に、長手方向に隣接して形成されている。図5は、パーソナルコンピュータ4のブロックダイアグラムである。図5に示されるように、パーソナルコンピュータ4は、画像生成システム全体の動作を制御するCPU30と、冷却CCDカメラ2によって生成され、画像データバッファ12に一時的に記憶された画像データを読み出す画像データ転送手段31と、画像データ転送手段31によって読み出された画像データに画像処理を施して、画像データ記憶手段32に記憶させる画像処理手段33と、画像データ記憶手段32に記憶された画像データに基づいて、CRT5の画面上に、可視画像を表示させる画像表示手段34とを備えている。第一の青色LED励起光源20、第二の青色LED励起光源21および第三の青色LED励起光源22ならびに赤色LED
40 光源23、24、25は光源制御手段35によって制御されている。また、CPU30は、カメラ制御回路13、光源制御手段35および第一の青色LED励起光源20と第一の赤色LED光源23が形成された平板19を移動させるモータ36を制御可能に構成されている。CPU30には、キーボード6から種々の信号が入力される。

【0008】以上のように構成された蛍光画像生成装置は、以下のようにして、ゲル支持体または転写支持体に担持された蛍光物質の画像を読み取り、画像を生成す

る。まず、暗箱3が開かれ、暗箱3内の拡散板29上に、画像担体40として、蛍光物質の画像を担持しているゲル支持体または転写支持体が、ユーザによって載置される。その後、ユーザにより、カメラレンズ17を用いて、レンズフォーカス調整がなされ、レンズフォーカス調整が完了すると、暗箱3が閉じられる。次いで、ユーザが、キーボード6に画像生成信号を入力すると、CPU30は光源制御手段35に露光開始信号を出力して、第一の青色LED励起光源20または第二の青色LED励起光源21と第三の青色LED励起光源22の双方をオンするとともに、カメラ制御回路13に露光開始信号を出力して、シャッタ10を開き、CCD7の露光を開始させる。第一の青色LED励起光源20または第二の青色LED励起光源21と第三の青色LED励起光源22から発せられた励起光は、フィルタ25またはフィルタ26およびフィルタ27を透過することによって、450nm近傍の波長以外の蛍光物質の励起に有害な光がカットされ、450nm近傍の波長の光のみが画像担体40に照射され、画像担体40に含まれている蛍光物質が励起される。その結果、蛍光物質から蛍光が発せられ、カメラレンズ17の前面に位置している色分離フィルタ16に入射する。ここに、色分離フィルタ16は、励起光である450nm近傍の波長の光をカットする性質を有しており、励起光の多くは、色分離フィルタ16によって、カットされ、蛍光物質から発せられた蛍光が、カメラレンズ17を介して、CCD7によって受光される。こうして、所定の時間が経過し、ユーザが、キーボード6に露光終了信号を入力すると、CPU30は、カメラ制御回路13に露光終了信号を出力する。カメラ制御回路13は、露光終了信号を受けると、シャッタ10を閉じ、CCD7が電荷の形で蓄積しているアナログ画像データを、A/D変換器11に転送させ、デジタル化させて、デジタル画像データを、画像データバッファ12に一時的に記憶させる。

【0009】さらに、CPU30は画像データ転送手段31に画像転送信号を出力して、画像データバッファ12に一時的に記憶された画像データを読み出させ、画像処理手段33に入力させる。画像処理手段33は、入力された画像データに所定の画像処理を施し、画像データ記憶手段32に記憶させる。

【0010】ここに、蛍光画像生成装置は、色分離フィルタ16によって、励起光をカットし、蛍光物質から発せられた蛍光のみを検出するように構成されているが、色分離フィルタ16により、励起光を完全にカットすることはきわめて困難であり、暗箱3内で散乱された励起光がCCD7に入射し、CCD7が検出することを完全には防止できないため、以上のようにして、生成された画像データに基づき、蛍光画像を生成するときは、蛍光画像には、暗箱3内で散乱された励起光、画像担体40がゲル支持体の場合には、暗箱3内で散乱された励起光

とゲル支持体の表面で散乱された励起光に起因するノイズが含まれることになり、所望の画像解析をすることができない。そこで、本実施態様においては、蛍光物質から発せられた蛍光を検出して得られた画像データを、画像データ記憶手段32に記憶させた後に、暗箱3内で散乱された光を検出して、補正画像データを生成し、画像データから、デジタル的に減算することによって、散乱された励起光に起因するノイズを効果的に除去するように構成されている。すなわち、ユーザが、キーボード6に補正画像生成信号を入力すると、CPU30は光源制御手段35に補正画像生成信号を出力して、画像データ生成時に、第一の青色LED励起光源20が使用されたときは、モータ36に駆動信号を出力して、第一の赤色LED光源23を拡散板29の下方に位置させた後に、第一の赤色LED光源23をオンさせ、画像データ生成時に、第二の青色LED励起光源21および第三の青色LED励起光源22が使用されたときは、第二の赤色LED光源24および第三の赤色LED光源25をオンさせるとともに、カメラ制御回路13に補正画像生成信号を出力して、シャッタ10を開き、CCD7の露光を開始させる。ここに、赤色LED光源23、24、25から発せられる赤色光によっては、画像担体40中の蛍光物質は励起されないから、CCD7によって、検出される光は、暗箱3内で散乱された光のみ、あるいは、画像担体40がゲル支持体の場合には、暗箱3内で散乱された光とゲル支持体の表面で散乱された光のみである。蛍光画像の生成時と同じ所定時間が経過し、ユーザが、キーボード6に補正画像生成終了信号を入力すると、CPU30は、カメラ制御回路13に補正画像生成終了信号を出力する。カメラ制御回路13は、補正画像生成終了信号を受けると、シャッタ10を閉じ、CCD7が電荷の形で蓄積しているアナログ補正画像データを、A/D変換器11に転送させ、デジタル化させて、デジタル補正画像データを、画像データバッファ12に一時的に記憶させる。

【0011】こうして得られた補正画像データは、暗箱3内で散乱された光のみを、あるいは、画像担体40がゲル支持体の場合に、暗箱3内で散乱された光とゲル支持体の表面で散乱された光のみを検出して得られたものであるから、この補正画像データに基づいて、補正画像を生成すれば、補正画像は、蛍光を検出して得た画像データに基づき、蛍光画像を生成したときに、蛍光画像に含まれる暗箱3内で散乱された励起光と、画像担体40がゲル支持体の場合に、ゲル支持体の表面で散乱された励起光に起因するノイズに対応する画像となり、蛍光を検出して得た画像データから、補正画像データをデジタル的に減算すれば、散乱された励起光に起因するノイズを蛍光画像から効果的に除去することが可能となる。したがって、CPU30は画像データ転送手段31に画像転送信号を出力し、画像データバッファ12に一時的

に記憶された補正画像データを読み出させて、画像処理手段33に入力させる。画像処理手段33は、画像データ記憶手段32に記憶された画像データを読み出し、読み出した画像データから、入力された補正画像データをデジタル的に減算して、蛍光画像データを生成し、画像データ記憶手段32に記憶させる。その後、ユーザが、キーボード6に画像生成信号を入力すると、CPU30は画像表示手段34に画像生成信号を出力して、画像データ記憶手段32に記憶された蛍光画像データに基づき、可視画像をCRT5の画面上に生成する。しかるに、画像データ記憶手段32に記憶されている蛍光画像データは、散乱された励起光に起因するノイズが除去されたものであるから、CRT5の画面上には、ノイズのない蛍光画像が表示される。

【0012】本実施態様によれば、画像担体40中の蛍光物質が励起されない赤色光を発する赤色LED光源23、24、25を用いて、CCD7に、暗箱3内で散乱された光のみ、あるいは、画像担体40がゲル支持体の場合には、暗箱3内で散乱された光とゲル支持体の表面で散乱された光のみを検出させて、補正画像データを生成し、暗箱3内で散乱された励起光に起因し、あるいは、画像担体40がゲル支持体の場合には、暗箱3内で散乱された励起光とゲル支持体の表面で散乱された励起光に起因するノイズを含む画像データから、補正画像データをデジタル的に減算して、蛍光画像データを生成し、得られた蛍光画像データに基づいて、蛍光画像をCRT5の画面上に生成しているから、暗箱3内で散乱された励起光に起因し、あるいは、画像担体40がゲル支持体の場合には、暗箱3内で散乱された励起光とゲル支持体の表面で散乱された励起光に起因するノイズを、蛍光画像から効果的に除去し、高感度で、蛍光画像を生成することが可能となる。図6は、本発明の他の実施態様にかかる蛍光画像生成装置の暗箱3の略縦断面図である。図6に示されるように、本実施態様においては、暗箱3内には、第一の赤色LED光源23、第二の赤色LED光源24および第三の赤色LED光源25は設けられてはならず、第一の青色LED励起光源20の表面に貼着されたフィルタ26上に、拡散板29が設けられている。また、色分離フィルタ16に代えて、平板状のフィルタ部材50が、その長手方向に移動可能に設けられている。図7に示されるように、フィルタ部材50には、その長手方向に沿って、色分離フィルタ16と画像担体40に含まれた蛍光物質から発せられる蛍光をカットする蛍光カットフィルタ51が隣接して設けられている。蛍光カットフィルタ51はフィルタ部材50に着脱自在に取付けられている。図8は、本発明の他の実施態様にかかる蛍光画像生成装置のパーソナルコンピュータ4のブロックダイアグラムである。図8に示されるように、本実施態様にかかる蛍光画像生成装置のパーソナルコンピュータ4は、第一の青色LED励起光源20及び

第一の赤色LED光源23が形成された平板19を移動させるモータ36に代えて、フィルタ部材50を、その長手方向に沿って、移動させるモータ37を制御しており、その他は、前記実施態様にかかる蛍光画像生成装置のパーソナルコンピュータ4と基本的には、同一の構成を有している。

【0013】以上のように構成された本実施態様にかかる蛍光画像生成装置は、以下のようにして、ゲル支持体または転写支持体に担持された蛍光物質の画像を読み取り、画像を生成する。まず、暗箱3が開かれ、暗箱3内の拡散板29上に、画像担体40として、蛍光物質の画像を担持しているゲル支持体または転写支持体が、ユーザによって載置され、レンズフォーカス調整が完了すると、暗箱3が閉じられる。次いで、ユーザが、キーボード6に画像生成信号を入力すると、CPU30はモータ37に駆動信号を出力して、色分離フィルタ16がカメラレンズ17の前面に位置するように、フィルタ部材50を移動させ、光源制御手段35に露光開始信号を出力して、第一の青色LED励起光源20または第二の青色LED励起光源21と第三の青色LED励起光源22の双方をオンするとともに、カメラ制御回路13に露光開始信号を出力して、シャッタ10を開き、CCD7の露光を開始させ、前記実施態様と同様にして、画像データを生成して、画像データ記憶手段32に記憶させる。こうして得られた画像データに基づき、蛍光画像を生成するときは、前記実施態様と同様に、生成された画像データ蛍光画像には、暗箱3内で散乱された励起光、画像担体40がゲル支持体の場合には、暗箱3内で散乱された励起光とゲル支持体の表面で散乱された励起光に起因するノイズが含まれることになり、所望の画像解析をすることができない。

【0014】そこで、本実施態様においては、蛍光物質から発せられた蛍光を検出して得られた画像データを、画像データ記憶手段32に記憶させた後に、暗箱3内で散乱された励起光を検出して、補正画像データを生成し、画像データから、デジタル的に減算することによって、散乱された励起光に起因するノイズを効果的に除去するように構成されている。すなわち、ユーザが、キーボード6に補正画像生成信号を入力すると、CPU30は、モータ37に駆動信号を出力して、蛍光カットフィルタ51がカメラレンズ17の前面に位置するように、フィルタ部材50を移動させ、光源制御手段35に露光開始信号を出力して、第一の青色LED励起光源20または第二の青色LED励起光源21と第三の青色LED励起光源22の双方をオンするとともに、カメラ制御回路13に露光開始信号を出力して、シャッタ10を開き、CCD7の露光を開始させる。

【0015】本実施態様においては、450nm近傍の波長の光のみが画像担体40に照射され、画像担体40に含まれている蛍光物質が励起されて、蛍光物質から蛍

光が発せられ、蛍光カットフィルタ51に入射する。その結果、蛍光物質から発せられた蛍光がカットされ、暗箱3内で散乱された励起光のみ、あるいは、画像担体40がゲル支持体の場合には、暗箱3内で散乱された励起光とゲル支持体の表面で散乱された励起光のみが、カメラレンズ17を介して、CCD7によって検出される。

【0016】蛍光画像の生成時と同じ所定時間が経過し、ユーザが、キーボード6に補正画像生成終了信号を入力すると、CPU30は、カメラ制御回路13に補正画像生成終了信号を出力する。カメラ制御回路13は、補正画像生成終了信号を受けると、シャッタ10を閉じ、CCD7が電荷の形で蓄積しているアナログ補正画像データを、A/D変換器11に転送させ、デジタル化させて、デジタル補正画像データを、画像データバッファ12に一時的に記憶させる。こうして得られた補正画像データは、前記実施態様と同様に、暗箱3内で散乱された励起光のみを、あるいは、画像担体40がゲル支持体の場合に、暗箱3内で散乱された励起光とゲル支持体の表面で散乱された励起光のみを検出して得られたものであるから、この補正画像データに基づいて、補正画像を生成すれば、補正画像は、蛍光を検出して得た画像データに基づき、蛍光画像を生成したときに、蛍光画像に含まれる暗箱3内で散乱された励起光と、画像担体40がゲル支持体の場合に、ゲル支持体の表面で散乱された励起光に起因するノイズに対応する画像となり、蛍光を検出して得た画像データから、補正画像データをデジタル的に減算すれば、散乱された励起光に起因するノイズを蛍光画像から効果的に除去することが可能となる。したがって、CPU30は画像データ転送手段31に画像転送信号を出力し、画像データバッファ12に一時的に記憶された補正画像データを読み出させて、画像処理手段33に入力させる。画像処理手段33は、画像データ記憶手段32に記憶された画像データを読み出し、読み出した画像データから、入力された補正画像データをデジタル的に減算して、蛍光画像データを生成し、画像データ記憶手段32に記憶させる。

【0017】その後、ユーザが、キーボード6に画像生成信号を入力すると、CPU30は画像表示手段34に画像生成信号を出力して、画像データ記憶手段32に記憶された蛍光画像データに基づき、可視画像をCRT5の画面上に生成する。しかるに、画像データ記憶手段32に記憶されている蛍光画像データは、散乱された励起光に起因するノイズが除去されたものであるから、CRT5の画面上には、ノイズのない蛍光画像が表示される。

【0018】本実施態様によれば、蛍光カットフィルタ51を用いて、画像担体40に含まれる蛍光物質から発せられた蛍光をカットし、CCD7に、暗箱3内で散乱された励起光のみ、あるいは、画像担体40がゲル支持体の場合には、暗箱3内で散乱された励起光とゲル支持

体の表面で散乱された励起光のみを検出させて、補正画像データを生成し、暗箱3内で散乱された励起光に起因し、あるいは、画像担体40がゲル支持体の場合には、暗箱3内で散乱された励起光とゲル支持体の表面で散乱された励起光に起因するノイズを含む画像データから、補正画像データをデジタル的に減算して、蛍光画像データを生成し、得られた蛍光画像データに基づいて、蛍光画像をCRT5の画面上に生成しているから、暗箱3内で散乱された励起光に起因し、あるいは、画像担体40がゲル支持体の場合には、暗箱3内で散乱された励起光とゲル支持体の表面で散乱された励起光に起因するノイズを、蛍光画像から効果的に除去し、高感度で、蛍光画像を生成することが可能となる。また、蛍光カットフィルタ51は、フィルタ部材50に着脱自在に設けられているため、使用する蛍光物質に応じて、所望の蛍光カットフィルタ51をフィルタ部材50に取付けることによって、効果的に、散乱された励起光に起因するノイズを、蛍光画像から効果的に除去することができる。さらに、同じ青色LED励起光源20、21、22を用いて、画像データと補正画像データを生成しているの

ので、全く同じ条件で、散乱された励起光が、CCD7によって検出され、したがって、精度良く、散乱された励起光に起因するノイズを、蛍光画像から効果的に除去することが可能になる。

【0019】本発明は、以上の実施態様に限定されることなく、特許請求の範囲に記載された発明の範囲内で、種々の変更が可能であり、それらも、本発明の範囲内に包含されるものであることはいうまでもない。たとえば、前記実施態様においては、画像生成装置3は、第一の青色LED励起光源20と、第二の青色LED励起光源21および第三の青色LED励起光源22を備えているが、第一の青色LED励起光源20あるいは第二の青色LED励起光源21および第三の青色LED励起光源22の一方を省略することもできる。また、図6ないし図8に示された実施態様においては、フィルタ部材50は、平板状をなしているが、色分離フィルタ16と蛍光カットフィルタ51を選択的にカメラレンズ17の前面に位置させることができればよく、フィルタ部材50の形状は任意に決定することができる。さらに、前記実施態様においては、冷却CCDカメラ2を用いているが、

【0020】

【発明の効果】本発明によれば、散乱された励起光によって画像中に生ずるノイズを効果的に除去して、高感度で、蛍光画像を生成することのできる蛍光画像生成装置を提供することが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の実施態様にかかる蛍光画像生成装置の略正面図である。

【図2】図2は、冷却CCDカメラの略縦断面図である。

【図3】図3は、暗箱の略縦断面図である。

【図4】図4は、第一の青色LED励起光源と第一の赤色LED光源が形成された平板の略斜視図である。

【図5】図5は、パーソナルコンピュータのブロックダイアグラムである。

【図6】図6は、本発明の他の実施態様にかかる画像生成装置の暗箱の略縦断面図である。

【図7】図7は、フィルタ部材の略正面図である。

【図8】図8は、パーソナルコンピュータのブロックダイアグラムである。

【符号の説明】

- 1 蛍光画像生成装置
- 2 冷却CCDカメラ
- 3 暗箱
- 4 パーソナルコンピュータ
- 5 CRT
- 6 キーボード
- 7 CCD
- 8 伝熱板
- 9 ペルチェ素子
- 10 シャッタ
- 11 A/D変換器
- 12 画像データバッファ
- 13 カメラ制御回路
- 14 ガラス板
- 15 放熱フィン
- 16 色分離フィルタ
- 17 カメラレンズ
- 19 平板
- 20 第一の青色LED励起光源
- 21 第二の青色LED励起光源
- 22 第三の青色LED励起光源
- 23 第一の赤色LED光源
- 24 第二の赤色LED光源
- 25 第三の赤色LED光源
- 26、27、28 フィルタ
- 29 拡散板
- 30 CPU
- 31 画像データ転送手段
- 32 画像データ記憶手段
- 33 画像処理手段
- 34 画像表示手段
- 35 光源制御手段
- 36 モータ
- 37 モータ
- 40 画像担体

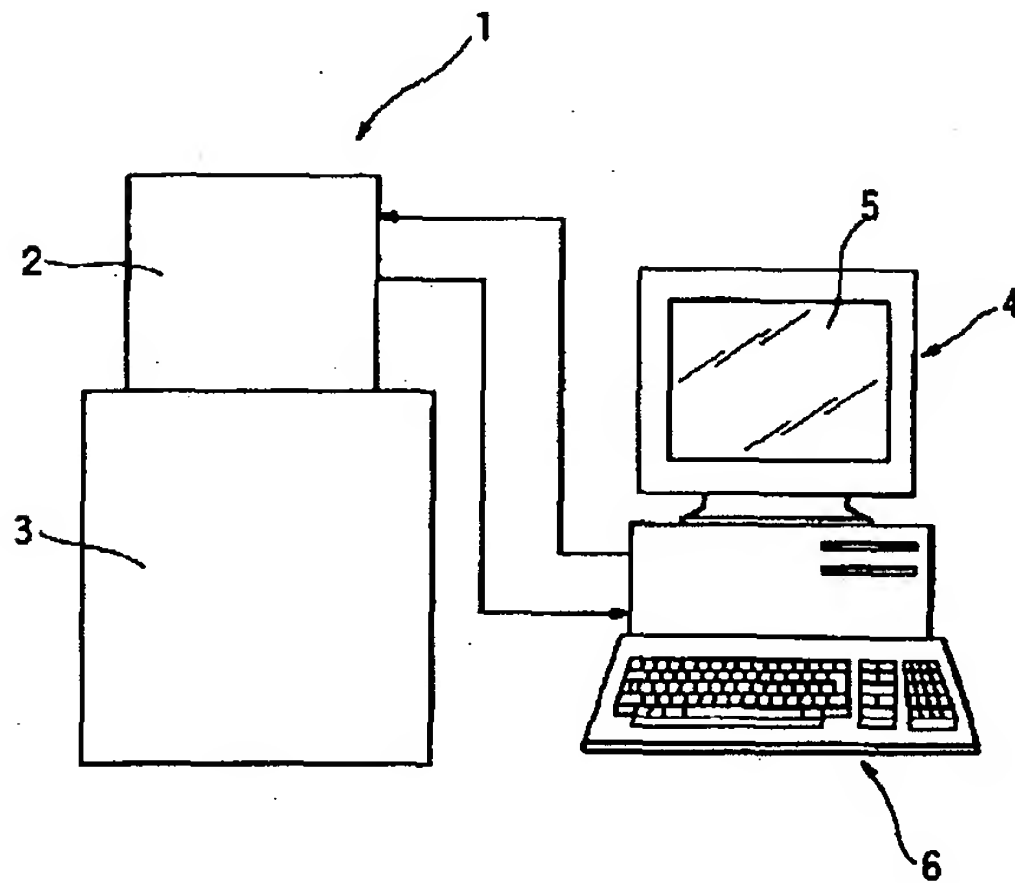
13

14

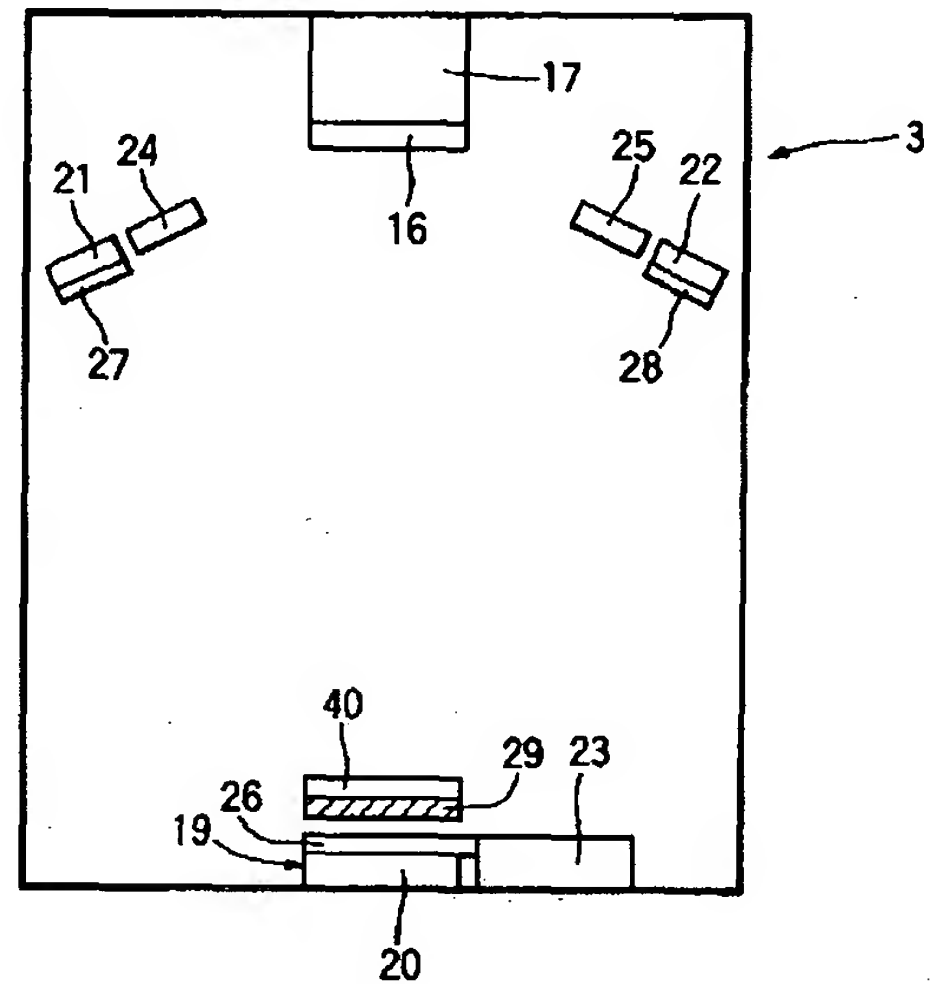
50 フィルタ部材

51 蛍光カットフィルタ

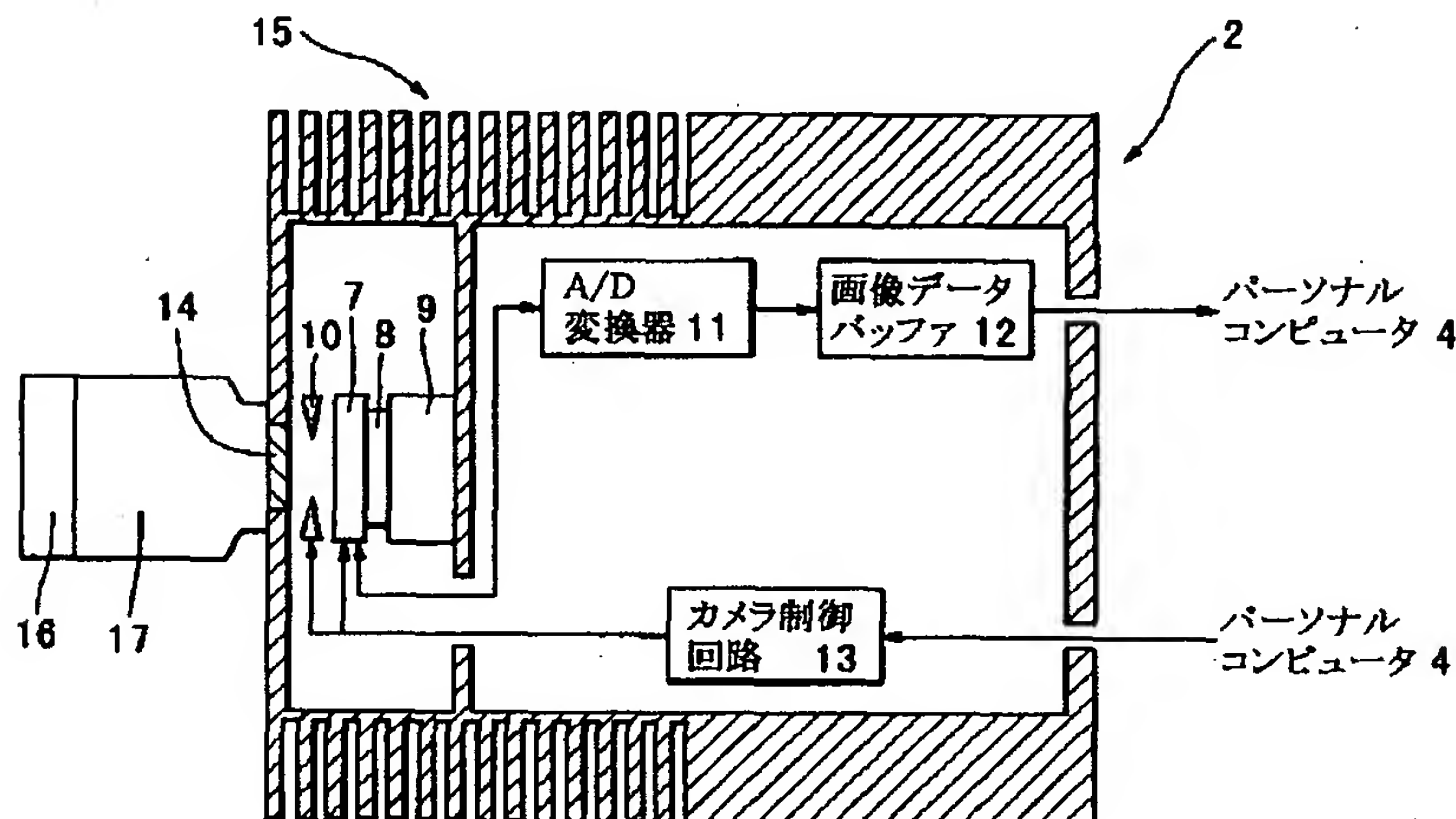
【図1】



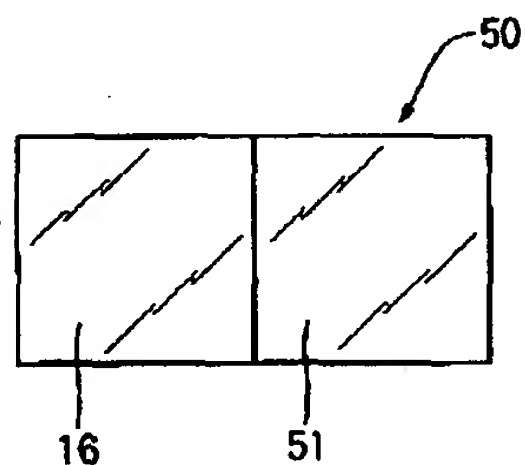
【図3】



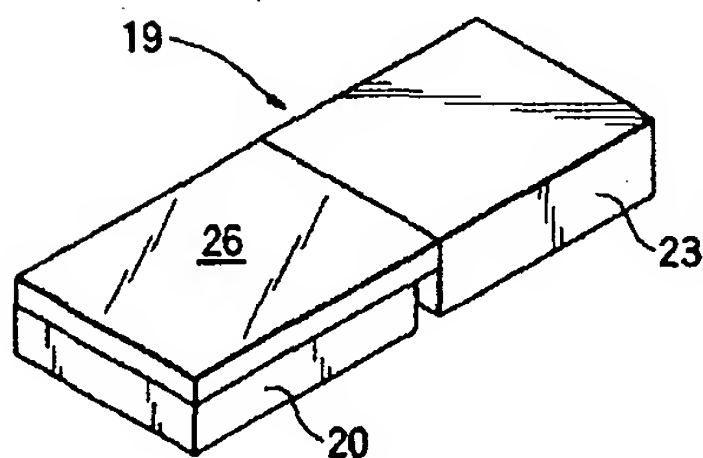
【図2】



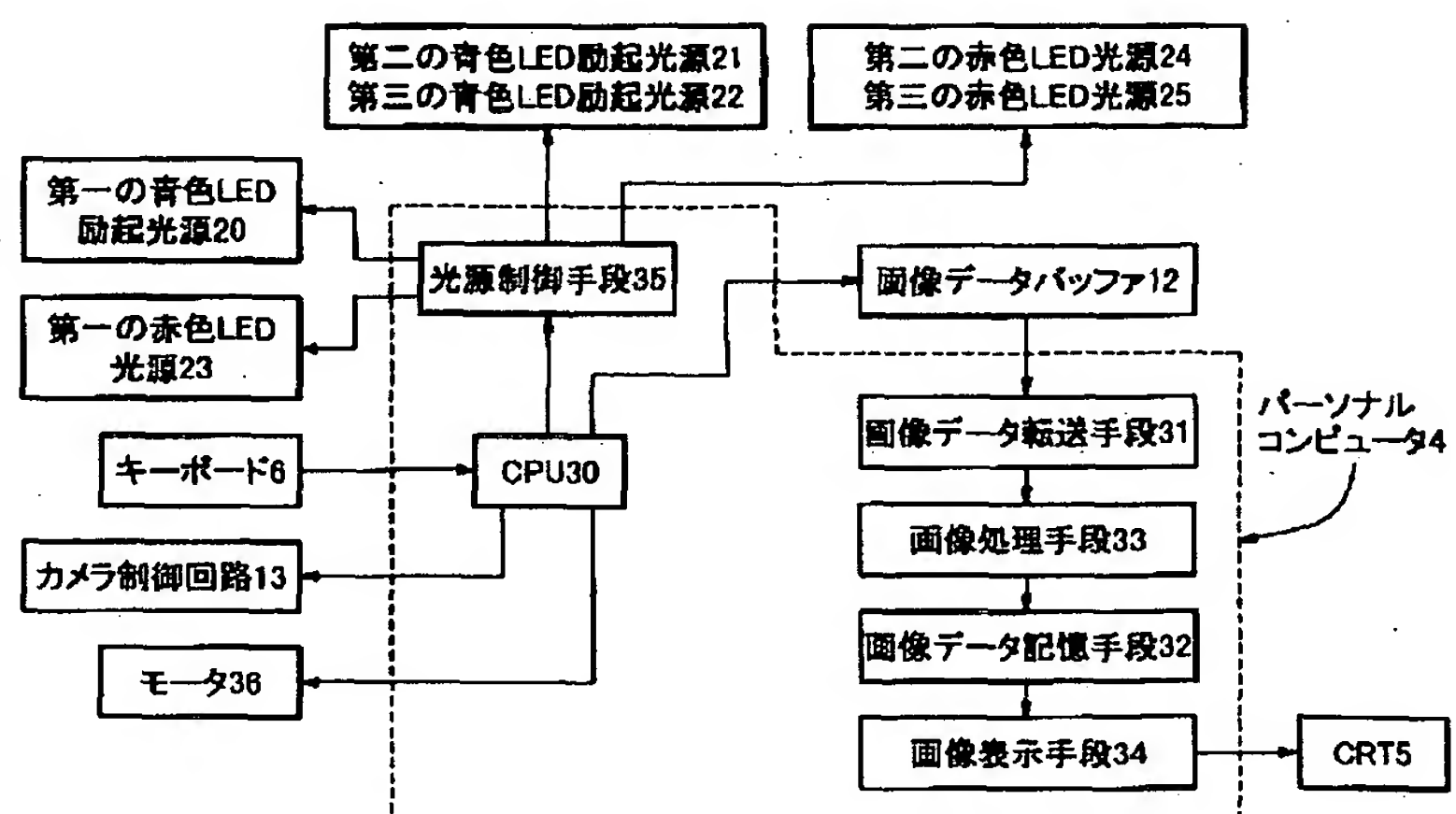
【図7】



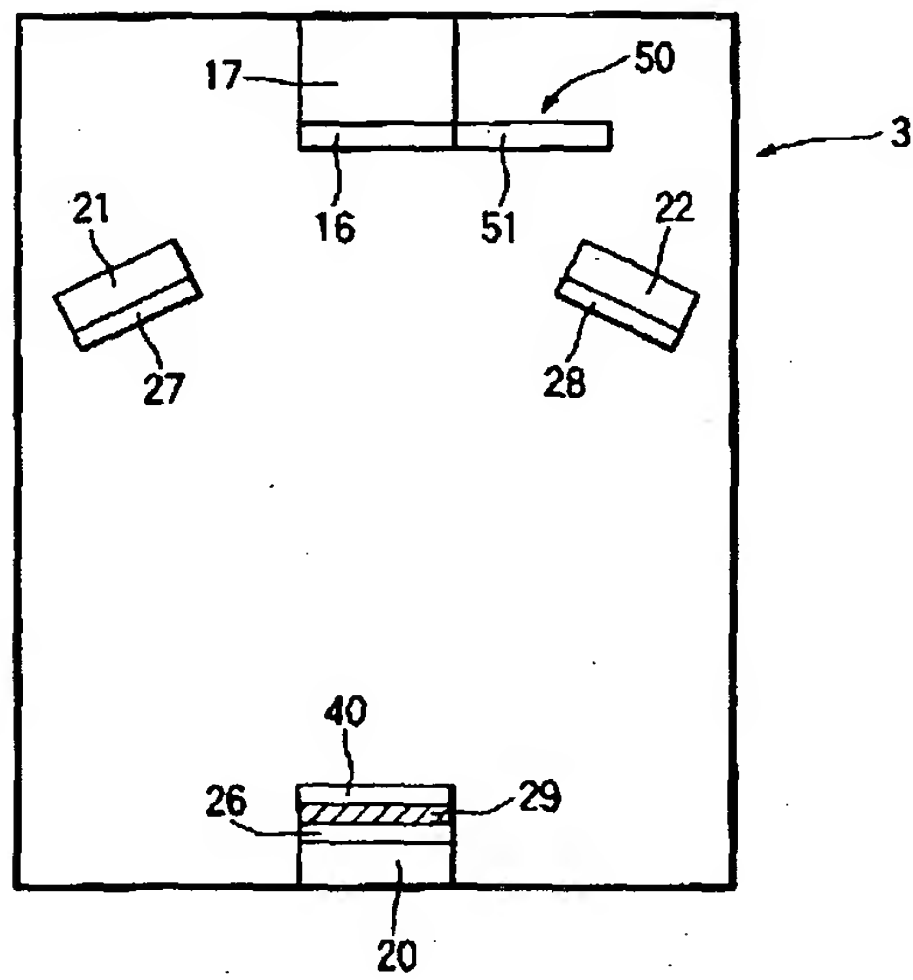
【図4】



【図5】



【図6】



【図8】

